

카드뮴 및 아연이 백서 혈장 ACTH 및 혈청Cortisol에 미치는 영향

김 주 영

원광보건전문대학 보건위생과

Effects of Cadmium and Zinc on Plasma ACTH and Serum Cortisol Levels in Rats

Joo-young Kim

Dept. of Health Hygiene, Wonkwang Health College, Iksan, Korea

Abstract

The toxic and detoxifying effects of cadmium and zinc on rat plasma ACTH and serum cortisol levels were investigated in rats. Rats were injected by i.p. with saline(0.9%), cadmium chloride(0.25 or 0.5mg/kg body weight) and pretreated with zinc chloride (4mg/kg body weight) before cadmium chloride treatment 1 or 2 weeks, respectively. The ACTH levels were no significant differences in cadmium 0.25mg/kg-treated group, but were significantly decreased in cadmium 0.5mg/kg-treated group compared with normal group. The ACTH levels after zinc pretreatment for 1 week were significantly increased but zinc pretreatment for 2 week were no difference. The serum cortisol levels of cadmium treated rats were significantly decreased, but were increased in zinc pretreated rats. The results showed that the zinc have some protective effect on cadmium toxicity in rats.

I. 서 론

카드뮴은 납이나 아연 광산의 광물 용해시 생성되는 부산물로서 합금이나 전기 도금, 페인트, 도자기염료, 부식방지제, cadmium-nickel 전지, 살균제 등으로 다양하게 사용되고 있으며 그 사용량도 증가하는 추세에 있다^{1,2)}.

경구나 호흡을 통하여 카드뮴에 노출되었을 경우 노출되는 양과 형태, 폭로 기간 및 체내 침입 경로에 따라 다양한 독성이 나타난다. 고농도 폭로는 위나 호흡기의 상피 세포를 심하게 자극하여 구토나 설사를 일으키고 간과 testes 조직에 손상을 유발한다. 그러나 이러한 고농도의 폭로는 극히 희소하며 주로 경구나 호흡기를 통한 저농도의 만성 폭로가 건강 장애를 일으킨다³⁻⁵⁾.

카드뮴은 폐로는 잘 흡수되나 소화기로는 잘 흡수되지 않으며 배설되는 주 경로는 소변이다. 그러나 흡수된 카드뮴은 대부분 metallothionein 혹은 다른 세포 물질과 단단히 결합하여 조직 안에 존재하며, plasma 중의 카드뮴은 근위신세뇨관(proximal tubule)에서 cadmium-metallothionein complex 형태로 재흡수된 후 리소솜에 의하여 분해되어 다시 카드뮴으로 유리되어 세뇨관에서 metallothionein의 합성을 유도하거나 세뇨관 세포의 다른 물질과 결합함으로써 소변을 통하여 배설이 안되고 인체 특히 신장에 축적된다^{6,7)}.

급만성적으로 인체에 침입한 카드뮴이 가장 많이 축적되는 곳은 신 피질(renal cortex)이며 이에 따라 신기능

장해를 초래하여 B2-microglobulin, lysozyme, ribonuclease, immunoglobulin light chain, retinol-binding protein, metallothionein 등 저분자 단백질을 포함한 단백뇨 (proteinuria)가 나타난다⁸⁾. Nogawa 등⁹⁾은 일본에서 카드뮴 오염 지역 남성의 90% 이상이 세뇨관의 손상에 의하여 microglobulinuria가 나타났다고 하였으며 Roles 등¹⁰⁾도 벨기에에서 유사한 사례를 보고하였다. Bernard 등¹¹⁾은 사구체의 손상에 의한 알부민 등 고분자 단백질을 배설하는 사구체 단백뇨의 발현을 보고하였으나 아직 논란의 여지가 있다¹²⁾. Nomiyama¹³⁾는 카드뮴에 의한 신 기능 장애는 주로 세뇨관 손상에 의한 것으로 저분자 단백질을 포함한 단백뇨 뿐만 아니라 효소, 아미노산, 포도당, 칼슘 및 무기인산 등의 재흡수 억제로 나타난다고 하였다.

Shaikh와 Smith¹⁴⁾는 카드뮴이 인체의 방어 작용을 자극하여 metallothionein의 합성이 증가하며, 소변 중의 metallothionein의 양은 간, 신장 및 요의 카드뮴 농도와 비례한다고 하였다. metallothionein은 카드뮴을 다량 함유하는 저분자의 단백질로 Margoshes와 Vallee¹⁵⁾에 의하여 말의 신장 피질에서 최초로 분리되었다. 그 후 Piscator¹⁶⁾는 카드뮴을 투여한 토끼의 간에서 다량의 metallothionein을 분리 정제하여 이 물질이 증금속에

대한 반응 물질로 유도 합성된다고 보고하였다. 증금속에 대한 생체반응 중 metallothionein의 생성은 아직 여러 가지 논란의 여지가 있으나 증금속에 노출되었을 때 그 대사량의 변화가 있는 것은 확실하며 생체내 방어 물질의 하나로 보고되어 있다¹⁷⁻¹⁸⁾.

카드뮴 독성에 대한 방어 물질들 중 이제까지 알려진 것으로는 SH기의 환원체인 dithiothreitol과 미량 원소인 zinc, selenium, germanium 등이 있으며 그 중 아연은 metallothionein의 합성을 증가시켜 카드뮴의 독성을 경감시키고 배설을 촉진한다고 알려져 있다¹⁹⁾

본 연구에서는 카드뮴 독성에 의한 신기능 장애가 부신 피질 hormone 분비에도 영향을 미칠 것으로 사료되어 카드뮴 및 카드뮴의 독성을 경감시키는 아연을 백서에 투여한 후 부신피질에서 분비되는 hormone인 cortisol 및 cortisol 분비를 자극하는 뇌하수체 전엽 hormone(ACTH)의 농도의 변화를 관찰하였다.

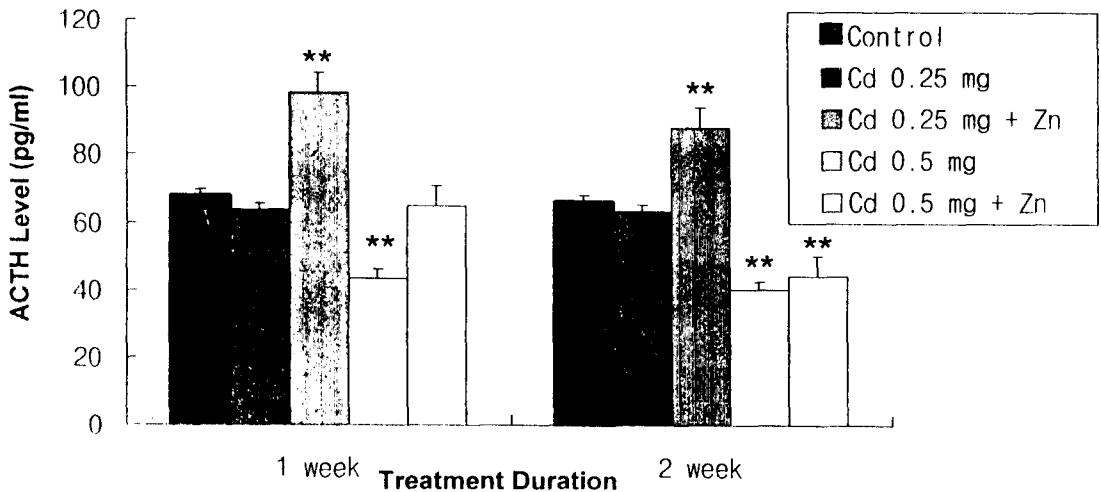


Fig. 1. Effect of cadmium and zinc on ACTH levels in rats. Each value represents the mean for 8 rats per group. Error bars are standard errors. Rats were injected by i.p. with saline, cadmium chloride and pretreated with zinc chloride (4 mg/kg) before cadmium chloride pretreat. The rats were sacrificed 24 hrs after the last treatment and the plasma and serum were obtained. Significantly different from control group(**: $p < 0.01$)

II. 재료 및 방법

1. 실험 동물

실험 동물은 체중 200-250g 내외의 Sprague-Dawley 계 백서를 암수 구별 없이 사용하였다. 실험군은 1주 투여군과 2주 투여군으로 나누고 이를 다시 각각 대조군, 카드뮴 투여군, 아연 전처리 후 카드뮴 처리군 분류하였고 이들 각군에 8마리의 백서를 사용하였다.

2. 카드뮴 및 아연 투여

대조군은 생리식염수를 투여하였고, 카드뮴 투여군은 카드뮴(CdCl_2 , Sigma)을 생리 식염수에 용해 0.25mg/kg 혹은 0.5mg/kg을 매일 1회 복강주사 하였고, 아연 전처리군은 아연(ZnCl_2 , Sigma)을 생리 식염수에 용해 카드뮴 투여 30분전에 4mg/kg을 복강내 주사하였다. 각각의 실험군은 마지막 주사 후 24시간이 경과 한 후 ether로 마취하여 혈액을 채취한 후 혈장 및 혈청을 분리하였다.

3. ACTH 및 Cortisol 측정

ACTH 농도를 측정하기 위하여 EDTA처리 진공 채혈관으로 채혈한 혈액 6ml를 4°C에서 1000-1500 x g로 15분간 원심 분리한 후 상청액을 취하여 4°C에서 6000 x g로 10분간 원심 분리 혈장을 취하여 -20°C에서 보관하였다.

분리한 혈장을 Double Antibody ACTH RIA Kit (Diagnostic Products Co. LA, CA)를 사용 RIA법으로 ACTH의 농도를 측정하였다. 혈청 cortisol을 측정하기 위하여 채혈한 혈액 4ml를 실온에서 1시간 방치한 후 3000rpm에서 10분간 원심분리 혈청을 분리한 후 -20°C에서 냉동 보관하여 Coat-A-Count Cortisol Kit (Diagnostic Products Co. LA, CA)를 사용하여 RIA법으로 측정하였다^{20,21)}.

4. 통계처리

자료의 통계학적인 분석은 SPSS/PC+ package를 이용하였으며 대조군, 카드뮴 처리군 및 아연 전처리군간의 비교는 ANOVA를 시행한 후 Duncan's multiple range test를 하여 각 군간의 유의한 차이를 검증하였고, 1주와 2주 투여군간의 유의성 검증은 student's t-test를 하였다.

III. 결과

1. 카드뮴 및 아연 투여시 ACTH 변화

카드뮴 0.25mg/kg 투여시 ACTH 농도는 1주 및 2주 모두 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 아연 전처리군은 1주 투여군은 $98.54 \pm 5.94 \text{ pg/ml}$, 2주 투

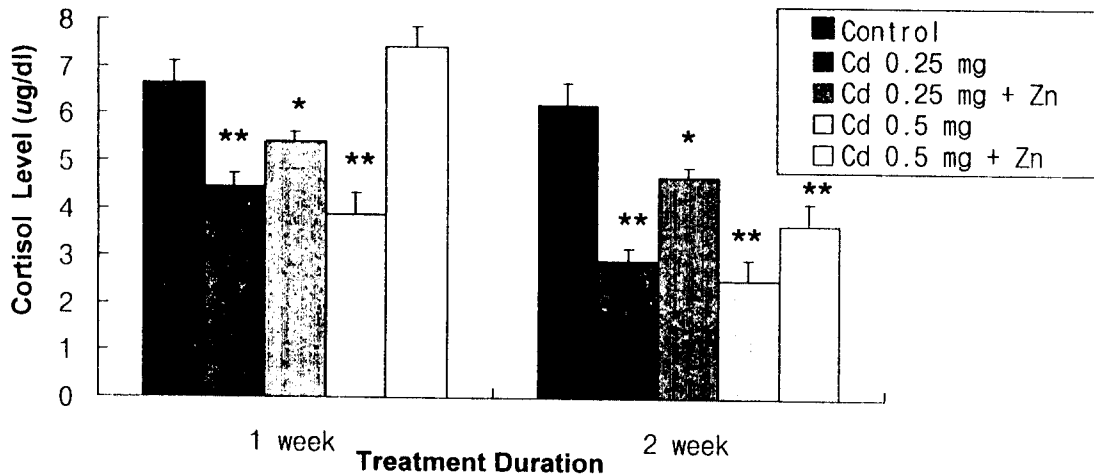


Fig. 2. Effect of cadmium and zinc on cortisol levels in rats. Each value represents the mean for 8 rats per group. Error bars are standard errors. Rats were injected i.p. with saline, cadmium chloride and pretreated with zinc chloride (4 by mg/kg) before cadmium chloride pretreatment. The rats were sacrificed 24 hrs after the last treatment and the plasma and serum were obtained. Significantly different from control group (*; $P < 0.05$ ** ; $P < 0.01$)

여군은 $88.11 \pm 2.45 \text{ pg/ml}$ 로 대조군 및 카드뮴 단독 처리군에 비하여 유의하게 ($p < 0.01$) 증가하였다. 그러나 1주 투여군과 2주 투여군 간에 유의한 차이는 없었다.

카드뮴 0.5 mg/kg 투여시 ACTH 농도는 1주 $43.58 \pm 2.68 \text{ pg/ml}$, 2주 $40.26 \pm 3.76 \text{ pg/ml}$ 모두 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다 ($p < 0.01$). 그러나 아연 전처리한 경우 1주 투여군은 $64.88 \pm 5.99 \text{ pg/ml}$ 로 카드뮴 단독 처리군에 비하여 유의하게 증가하였으나 ($p < 0.01$), 대조군과는 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 2주 투여군은 $44.20 \pm 3.13 \text{ pg/ml}$ 로 카드뮴 단독 처리군 및 대조군에 비하여 유의하게 ($p < 0.01$) 감소하여 1주 투여군과 2주 투여군 간에 유의한 차이가 있었다 ($p < 0.01$) (fig.1).

2. 카드뮴 및 아연 투여시 Cortisol 변화

카드뮴 0.25 mg/kg 단독 투여시 cortisol 농도는 1주 투여군은 $4.46 \pm 0.27 \text{ ug/dl}$, 2주 투여군은 $2.91 \pm 0.32 \text{ ug/dl}$ 로 모두 대조군에 비하여 감소하였으며, 1주 투여군에 비하여 2주 투여군이 매우 현저하게 감소하였다 ($p < 0.01$). 또한 아연 전처리한 경우 1주 투여군은 $5.39 \pm 0.20 \text{ ug/dl}$, 2주 투여군은 $4.69 \pm 0.29 \text{ ug/dl}$ 로 대조군보다는 감소하였으나 ($P < 0.05$) 카드뮴 단독 처리군보다는 높았다. 또한 2주 투여군이 1주 투여군보다 유의하게 감소하였다 ($p < 0.01$).

카드뮴 0.5 mg/kg 단독 투여시 cortisol 농도는 1주 투여군은 $3.88 \pm 0.52 \text{ ug/dl}$, 2주 투여군은 $2.51 \pm 0.65 \text{ ug/dl}$ 로 모두 대조군에 비하여 현저한 감소를 보였다 ($p < 0.01$). 그러나 아연 전처리한 경우 1주 투여군은 $7.41 \pm 0.44 \text{ ug/dl}$ 로 카드뮴 단독 처리군보다 유의하게 증가하였으나 ($p < 0.01$), 대조군과는 유의한 차이를 보이지 않았다. 2주 투여군은 $3.68 \pm 0.45 \text{ ug/dl}$ 로 카드뮴 단독 처리군 보다는 증가하였으나 대조군보다는 유의하게 감소하여 ($p < 0.01$) 1주 투여군과 2주 투여군 간에 매우 유의한 차이는 있었다 ($p < 0.01$) (fig.2).

IV. 고 찰

카드뮴 폭로는 동물과 인간의 여러 조직이나 기관의 손상을 유발하며 특히 신장, 간, 심혈관계, 골격계 및 면역계 등에서 현저하게 나타난다. 이러한 영향은 각 표적 조직에 축적된 카드뮴 농도와 밀접한 연관성을 갖고 있으며, 카드뮴은 체내에 축적성이 강하기 때문에 고농도의 단기 폭로와 저농도의 장기 폭로는 비슷한 효과가 있다.²⁾

조직내의 카드뮴 농도가 카드뮴 독성을 정량적으로 설명하는데 매우 유용하게 사용되고 있지만, 더욱 중요한 것은 조직내에 카드뮴의 존재 형태이다.²³⁾ Foulkes 등²⁴⁾에 의하면 백서에 cadmium-metallothionein 투여시 급성 독성을 나타내는 부신 피질의 카드뮴 농도는 단지 $10 \mu \text{ g/g}$ 로 만성적인 경우나 호흡기 폭로보다 상당히 그 농도가 낮았고, 만성 폭로보다는 급성 폭로시 그 독성이 크다고 하였다. 이러한 이유는 신세뇨관에서 재 흡수된 cadmium-metallothionein의 분해시 유리되는 카드뮴이온이 감소되기 때문이며 이는 신장에서 metallothionein 합성의 증가에 기인하는 것으로 카드뮴의 반복적인 폭로에 따라 인체의 내성이 증가하기 때문이라고 하였다. 또한 아연 전처리에 의해서도 카드뮴의 독성이 감소하는데 이는 아연 전처리에 의하여 생성된 metallothionein이 카드뮴의 축적을 억제하기 때문이라고 하였다.²⁵⁾

카드뮴 만성 폭로나 급성폭로 후 상당한 시간이 경과한 후 인체에서 가장 높은 카드뮴 농도를 나타내는 곳은 신피질(renal cortex)로 신기능 장애를 초래하여 B2-microglobulin, retinol-binding protein, metallothionein, amino acid, enzyme 저분자 단백질을 포함한 단백뇨(proteinuria)가 나타난다⁸⁾. Nomiyama¹³⁾은 카드뮴에 의한 신 기능 장애는 주로 세뇨관 손상에 의한 것으로 저분자 단백질을 포함한 단백뇨 뿐만 아니라 효소, 아미노산, 포도당, 칼슘 등 무기물의 재흡수 억제로 나타난다고 하였다.

한편 신장의 양쪽 위에 붙어있는 내분비선인 부신은 수질과 피질로 되어있으며, 피질에서 분비되는 aldosteron은 전해질대사를, cortisol은 당질대사를 조절한다. 또한 cortisol은 뇌하수체 전엽에서 분비되는 ACTH에 의하여 조절된다. Hilfenhaus²⁶⁾ 및 Erbler²⁷⁾는 부신피질 기능의 측정은 분비되는 cortisol의 양을 측정함으로써 가능하다고 하였다.

카드뮴 및 아연이 부신피질 기능에 미치는 영향 및 ACTH분비에 미치는 영향을 조사한 본 실험에서 카드뮴의 투여량 및 기간에 따른 ACTH 호르몬 농도의 변화는 카드뮴 투여량이 0.25 mg/kg 일 때는 1주 및 2주 모두 ACTH 농도에 영향을 미치지 않았으나 0.5 mg/kg 일 때는 유의하게 감소하여 카드뮴의 투여량이 증가함에 따라 ACTH의 농도가 감소하는 것을 알 수 있었다. 또한 카드뮴 0.25 mg/kg 에 아연을 전처리한 경우 ACTH농도가 대조군 보다 높아 아연처리에 의해서 ACTH의 농도가 상

승한 것으로 보인다. 그러나 카드뮴 0.5mg/kg에 아연을 전처리한 경우 1주 투여시는 ACTH농도가 대조군과 비슷하였으나 2주 투여시는 대조군에 비하여 현저하게 감소하여 카드뮴 단독 투여군과 차이를 보이지 않은 것으로 미루어 투여기간이 증가함에 따라 아연의 효과가 없는 것으로 나타났다.

카드뮴의 투여양 및 기간에 따른 cortisol의 농도는 카드뮴 투여량이 0.25mg/kg 및 0.5mg/kg 일 때 1, 2주 모두 cortisol 농도가 현저하게 감소하였으며 특히 투여양 보다는 투여 기간이 길수록 현저하게 감소하였다. 카드뮴에 아연을 전처리한 경우 cortisol 농도는 카드뮴 단독 처리군보다는 높았으며 대조군 보다는 낮은 것으로 미루어 카드뮴이 cortisol의 분비를 감소시키며 아연은 이를 경감시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

위의 결과에서 보는 바와 같이 카드뮴 투여는 ACTH 및 cortisol의 분비는 감소시키며 특히 cortisol 분비에 현저하게 영향을 미침을 알 수 있으며, 투여량보다는 투여 기간이 길수록 그 독성이 증가함을 알 수 있다. 또한 아연 전처리는 카드뮴 폭로가 저농도, 단기간일 때에는 상당한 독성 경감 효과가 있으나 카드뮴의 폭로양이 증가하고 폭로기간이 길어짐에 따라 그 효과를 기대하기가 어렵다고 사료된다.

V. 결론

카드뮴이 백서 혈장 ACTH 및 혈청 cortisol 농도에 미치는 영향 및 아연의 독성 경감 효과를 파악하기 위하여 백서에 cadmium 0.25, 0.5mg/kg 및 아연 4.0mg/kg를 각각 1주 및 2주 투여하여 조사한 결과는 다음과 같다.

- 1) ACTH 농도는 카드뮴 투여량이 0.25mg/kg일 때는 영향을 미치지 않았으나 0.5mg/kg일 때는 유의하게 감소하였다.
- 2) 아연을 전처리한 경우 ACTH농도는 카드뮴 0.25mg/kg 투여군에서는 1, 2주 모두 대조군 보다 높았으나, 카드뮴 0.5mg/kg 투여군에서는 1주 투여군은 대조군과 비슷하였으나 2주 투여군은 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다.
- 3) cortisol 농도는 카드뮴 0.25mg/kg 및 0.5mg/kg 투여군 모두 현저하게 감소하였다.
- 4) 아연을 전처리한 경우 cortisol 농도는 카드뮴 단독

처리군보다는 높았으나 대조군 보다는 낮아 아연은 이를 경감시키는 효과가 있었다.

감사의 글

* 본 연구는 1996년도 원광보건전문대학 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

참고 문헌

1. Goyer, RA : Toxic effect of metals. In: Klassen, CD., Amdur, MO., Doull, D., Casarett and Doull's Toxicology, 4th ed., Macmillan Publishing Co., 582-635, 1986.
2. Stokinger, HE : The Metals. In: Clayton, GD., Clayton, FE., Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 3rd ed., John Wiley & Sons, Inc., 1563-1583, 1981.
3. Wong, KL, Klaassen, CD : Neurotoxic effect of cadmium in young rats. Toxicol Appl Pharmacol., 63, 330-337, 1982.
4. Dudley, RE, Svovoda DJ, Klaassen CD : Acute exposure to cadmium causes severe liver injury in rats. Toxicol Appl Pharmacol., 65, 302-310, 1982.
5. Colucci, AV, Winge D, Krausno J : Cadmium accumulation in rat liver. Arch Environ. Health, 30, 153-157, 1975.
6. Webb, WS, Etienne, AT : Studies on the toxicity and metabolism of cadmium-thionein. Biochem Pharmacol, 26, 25-30, 1977.
7. Nomiyama, K : The chronic toxicity of cadmium. In : Foulkes, EC, ed. Handbook of Experimental Pharmacology Vol.80. Berlin: Springer-Verlag, 101-103, 1986.
8. Piscator, M : Long-term observation on tubular and glomerular function in cadmium-exposed persons. Environ Health Perspect, 54, 175-179, 1984.
9. Nogawa K, Kobayashi E, Honda R, Ishizaki A, Kawano S, Matsuda H : Renal dysfunction of imhabitants in a cadmium-polluted area, Environ Res, 23, 13-23, 1980.

10. Roels HA, LAuwerys R, Buchet A, Bernard A : Environmental exposure to cadmium and renal function of aged women in three areas of Belgium, *Environ Res*, 24, 117-130, 1981.
11. Bernard A, Buchet JP, Roels H, Lauwerys R : Renal excretion of proteins and enzymes in workers exposed to cadmium, *Eur J Clin Inv*, 9, 11-22, 1979.
12. Elinder CG, Edling C, Lindberg E, Kagedal B, Vesterborg O : Assessment of renal function in workers previously exposed to cadmium. *Br J Ind Med*, 42, 754-760, 1985.
13. Nomiya K : Renal effects of cadmium. In: Nriagu JO, ed. *Cadmium in the Environment*. New York : John Wiley and Sons, 644-689, 1981.
14. Shaikh ZA, Smith LM : Biological indicators of cadmium exposure and toxicity, *Experientia*, 50, 124-130, 1984.
15. Margoshes M, Vallee BL : A cadmium protein from equine kidney cortex, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 4813-4817, 1957.
16. Piscator M : On cadmium in normal human kidneys together with a report on the isolation of metallothionein from livers of cadmium exposed rabbits, *Nord Hyg Toxicol*, 45, 76-82, 1964.
17. Goering PL, Klaassen CD : Tolerance to cadmium-induced hepatotoxicity following cadmium pretreatment, *Toxicol Appl Pharmacol*, 74, 308-314, 1984.
18. Sendelbach LE, Bracken WM, Klaassen CD : Comparisons of the toxicity of CdCl₂ and Cd-metallothionein in isolated rat hepatocyte, *Toxicology*, 55, 83-88, 1989.
19. Cherian MG, Nordberg M : Cellular adaptation in metal toxicology and metallothionein. *Toxicology*, 28, 1-7, 1983.
20. Orth DN : In Jaffe BM, Behrman H, *Methods of hormone radioimmunoassay*, Academic Press, 125-129, 1974.
21. Vecsei P : Glucocorticoids: cortisol, corticosterone, and compound S. In Jaffe BM, Behrman H : *Methods of hormone radioimmunoassay*, Academic Press, 1974.
22. Wang XP, Foulkes EC : Specificity of acute effects of cadmium on renal function. *Toxicology*, 30, 243-247, 1984.
23. Raghaven SRV, Gonick HC : Experimental Fanconi syndrome : Effect of repetitive injections of cadmium on tissue distribution and protein-binding of cadmium, *Mineral Electrolyte Metab*, 3, 36-43, 1980.
24. Foulkes EC, McMullen DM : Endogenous metallothionein as determinant of intestinal cadmium absorption, A reevaluation. *Toxicology*, 38, 285-291, 1986.
25. Suzuki Y, Morita I, Yemane Y, Murota S : Preventive effect of zinc against cadmium-induced bone resorption, *Toxicology*, 62, 27-32, 1990.
26. Hilfenhaus M : Urinary excretion of corticosterone as a parameter of adrenal cortical function in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 297(Suppl 11), R41, 1977.
27. Erbler HC : Measurement of cortocosteroids as index for adrenal cortex function, *Pharmacol Ther*, 5, 339-343, 1979.